GE Healthcare

Biacore

Biacore J

Instrument Handbook

日本語取扱説明書

GE imagination at work

71-3328-31

目次

1. 電源およびソフトウェアの起動 …… 1

1.1. 電源の立ち上げ …… 1

1.2. ランニング緩衝液、廃液ビンのセット …… 1

1.3. ソフトウェアの起動 …… 2

2. システムの初期化 …… 3

2.1. センサーチップの挿入と Dock …… 3

2.2. 測定温度の設定 …… 6

2.3. シグナルの校正 …… 6

3. 基本操作 …… 9

3.1. 測定の開始 …… 9

3.2. 試料溶液の添加 …… 11

3.3. レポートポイントの取得 …… 12

3.4. 測定の終了 …… 14

3.5. データのクローズ …… 14

4. 固定化 …… 15

4.1. アミンカップリング …… 16

4.2. リガンドの固定化 …… 19

4.3. 固定化量の確認 …… 23

4.4. データのクローズ …… 24

5. 相互作用測定 …… 25

5.1. 測定の開始 …… 27

5.2. アナライトの添加 …… 29

5.3. 再生溶液の添加 …… 29

5.4. 結合量と再生の確認 …… 30

5.5. 新規サイクルへの変更 …… 31

5.6. 測定の終了 …… 32

5.7. データのクローズ …… 32

6. システムの終了 …… 33

6.1. 実験の終了 …… 33

6.2. センサーチップの抜き取り …… 33

6.3. ポンプの締め金の解除 …… 34

6.4. 電源のオフ …… 34

6.5. センサーチップの保存 …… 34

7. 装置のメンテナンス …… **35**
7.1. 日常のメンテナンス …… 35
7.2. 毎週のメンテナンス …… 35
7.3. 毎月のメンテナンス …… 36
8. システムチェック …… **37**

1.　電源およびソフトウェアの起動

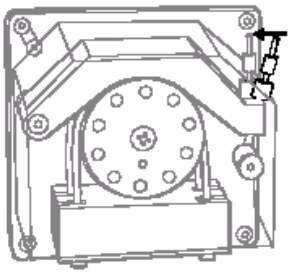
1.1.　電源の立ち上げ

定電圧電源装置→プリンター→モニター画面→システム本体→コンピュータの順に電源を入れる。

↓

システム本体中央にあるインジケータ(ライト)がすべて点灯する。30 秒ほどでリセットされ、新たに必要項目のみが点灯あるいは点滅する。

1.2.　ランニング緩衝液,廃液ビンのセット



前面右側のポンプ周辺から出ている 2 本のインレットチューブを、ランニング緩衝液を入れたボトルに差し込み、左図のようにポンプの締め金を留める。また、システム本体左側のコネクターブロックの下に廃液用ビーカーを置く。

補足 1　ランニング緩衝液について

・1 日の実験で使用するランニング緩衝液の量は、およそ 100～200ml 程度である。

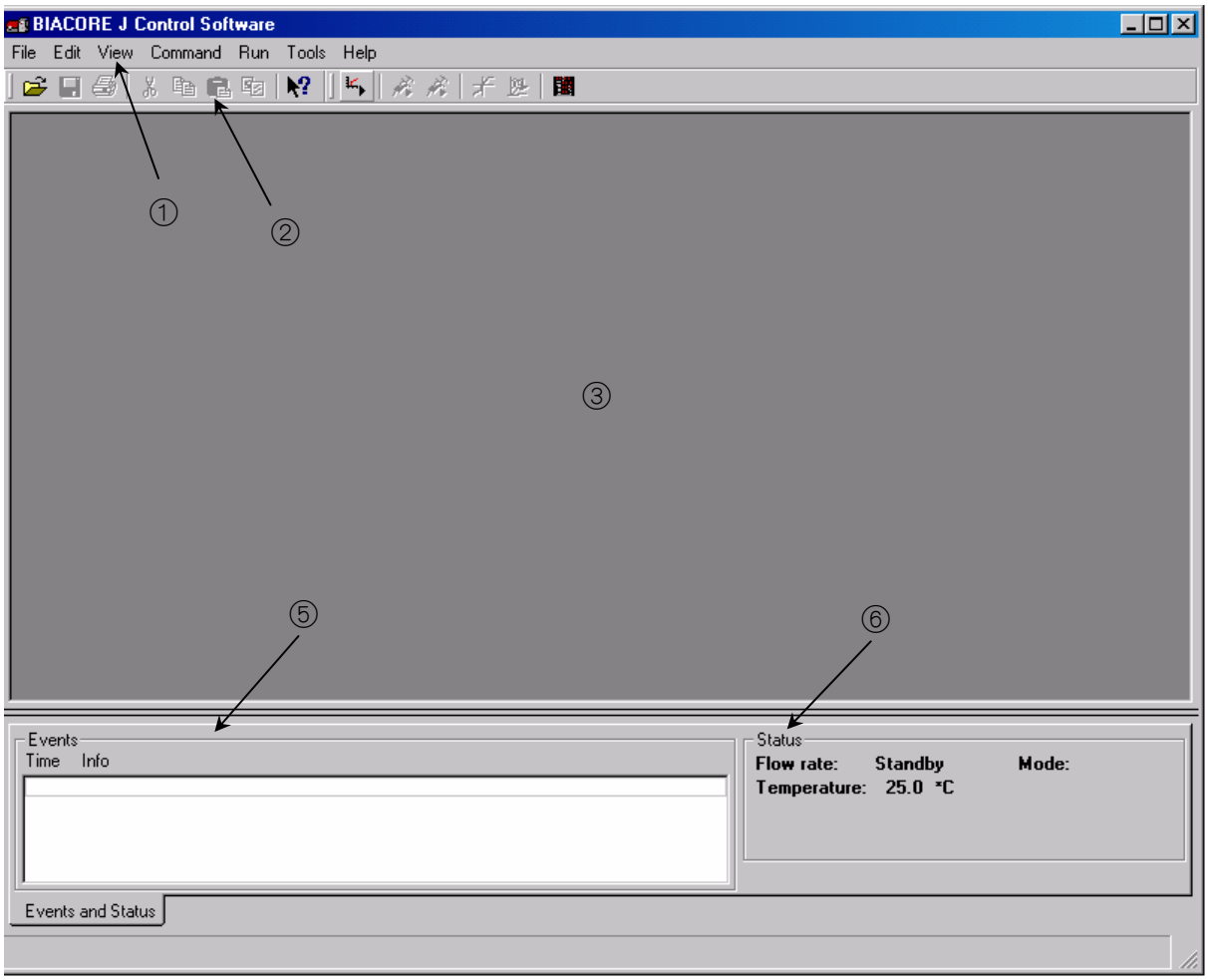
・実験目的にあわせ、緩衝液の変更は自由であるが、各自で調製した場合には、0.22 μ m フィルターでろ過を行い、さらに十分脱気を行う。

弊社から下記のランニング緩衝液を発売している。

HBS-EP	10mM HEPES /0.15M NaCl/3mM EDTA/0.005% Surfactant P20（pH7.4） フィルターろ過、脱気済み
HBS-P	10mM HEPES /0.15M NaCl/0.005% Surfactant P20（pH7.4） フィルターろ過、脱気済み
HBS-N	10mM HEPES /0.15M NaCl（pH7.4） フィルターろ過、脱気済み

1.3.　ソフトウェアの起動

モニターの初期画面左下の **Start→BIA Programs→BiacoreJ Control Software** をクリックして、ソフトウェアを起動する。



①Menu bar	Biacore の全ての操作コマンドが含まれている。
②Tool bar	使用頻度の高いコマンドをアイコン化してあり、簡便にコマンドを選択できる。
③Sensorgram window	センサーグラムをリアルタイムに表示する。
④Report point table	指定した時間におけるレスポンスを数値で表示する。
⑤Eventlog window	実行した操作事項を経時的に記録する。Sensorgram window の時間軸に現れる Event mark（▲）と対応する。
⑥Status window	現在のシステムの状態を表示する。

2.　システムの初期化

2.1.　センサーチップの挿入と **Dock**

センサーチップポートカバーを開ける。

↓

カバーごとコンベアーを引く。

センサーチップをセットする。

コンベアーを奥まで押し、カバーを戻す。

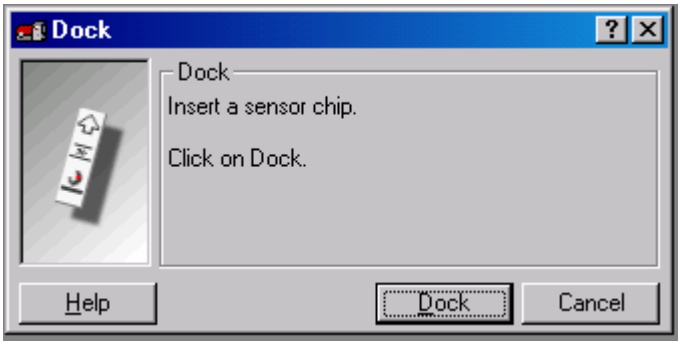
↓

センサーチップが挿入されると、インジケータの Sensor chip の緑ランプが点滅する。

↓

Menu bar の **Command→Dock** をクリックする。

↓

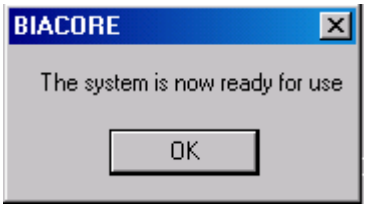


ボックス中の **Dock** をクリックする。

↓

Dock が実行され、続いて、自動的にランニング緩衝液による平衡化が実行される。

↓



約 4 分間で平衡化が終了する。画面上の OK をクリックする。

補足 2　Dock 操作における注意事項

・センサーチップを冷蔵庫から取り出した場合には、室温に戻した後、包装あるいは容器から取り出すようにする。

・センサーチップ内のプラスチックシートがセンサーチップのカバーにしっかり収まっていることを確認してから挿入する。

・センサーチップの交換は必ず Undock の状態で行う。**Dock の状態（インジケータの Sensor chip が緑色の点灯中）には、絶対にセンサーチップを抜かないこと。**

補足 3　センサーチップの種類

センサーチップには以下の種類がある。

Sensor Chip CM5
カルボキシルメチルデキストランをコーティングしたチップ。アミンカップリング、チオールカップリング、アルデヒドカップリング等の固定化に利用する汎用性の高いチップ。
Research Grade:　ロット間の誤差が 15%以下のチップ。通常の実験に使用できる。
Certified Grade:　ロット間の誤差が 5%以下のチップ。品質管理等で長期に渡る精密な実験を組む場合等に使用する。

Sensor Chip CM4
CM5 のカルボキシルメチルデキストランの導入量を減少させたチップ。カルボキシル基にイオン交換的に非特異的結合する塩基性物質を含むサンプルを用いる場合に使用する。

Sensor Chip CM3
CM5 のカルボキシルメチルデキストランを短くしたチップ。巨大分子（細胞、細菌、ファージ等）の固定化や、添加して相互作用測定をおこなう場合に利用する。

Sensor Chip C1
金表面に直接カルボキシル基のみを導入したチップ。CM3 と同様に、巨大分子（細胞、細菌、ファージ等）を用いる場合に使用する。比較的非特異的結合が多い。

Sensor Chip SA
ストレプトアビジンをあらかじめ固定化してあるカルボキシルメチルデキストランベースのチップ。ビオチン化した DNA、ペプチド、化合物等ビオチン化分子の固定化に使用する。

Sensor Chip NTA
NTAをあらかじめ固定化してあるカルボキシルメチルデキストランベースのチップ。ヒスチジンタグを持つ発現タンパク質（His-Tag Fusion Protein）をNi^{2+}を介して固定化できる。

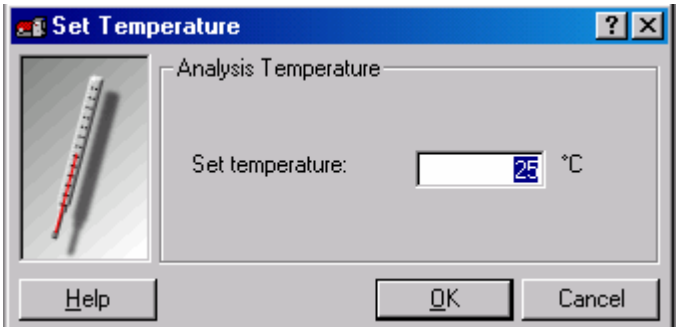
Sensor Chip HPA
金表面にオクタデシル基（C18）を導入したチップ。疎水性の高い表面で、リン脂質や糖脂質などをリポソームとして添加することで、単層（Monolayer）で固定化できる。

Sensor Chip L1
疎水性分子をあらかじめ固定化してあるカルボキシルメチルデキストランベースのチップ。リン脂質や糖脂質などをリポソームとして添加することで、二重層（Bilayer）で固定化できる。糖脂質、リン脂質や膜貫通型レセプター等の固定化に使用できる。

2.2.　測定温度の設定

測定部位の温度の設定を行う。**20～37 ℃**の測定温度の設定が可能である。

Command→Set Temperature を選択する。



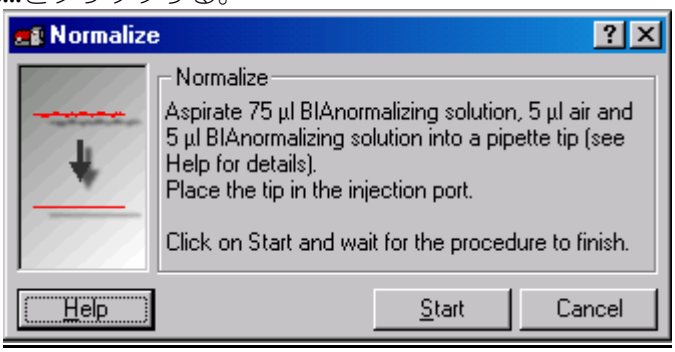
現在のシステムの温度は Status window 中に表示されている。設定温度に達していない場合、Status window の表示は赤色の点滅、インジケータは点滅している。設定温度に達して安定すると、Status window の表示は黒色、インジケータは点灯に変化する。

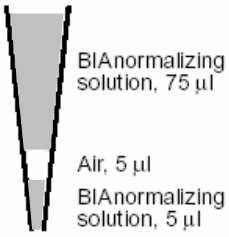
（注意）温度が安定してから測定を開始すること。

2.3.　シグナルの校正

温度が安定してから実行する。設定温度を変更した後には必ず行う。

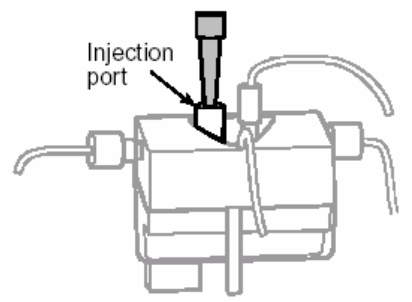
Tools→Normalize...をクリックする。


Normalize
Normalize
Aspirate 75 µl BIAnormalizing solution, 5 µl air and 5 µl BIAnormalizing solution into a pipette tip (see Help for details).
Place the tip in the injection port.
Click on Start and wait for the procedure to finish.
Help
Start
Cancel



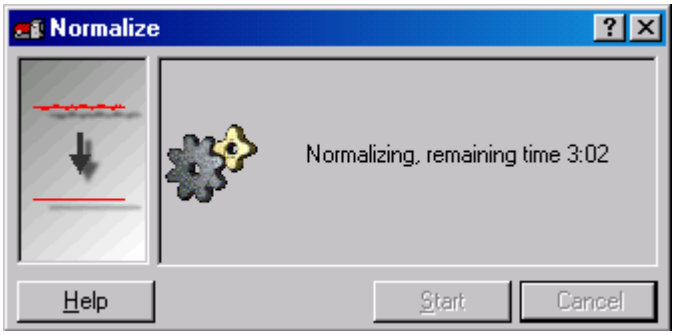
100～200 µl 容のマイクロピペットを用いて、BIAmaintenance Kit 中の **BIAnormalizing solution** を左の図のように取る。

↓

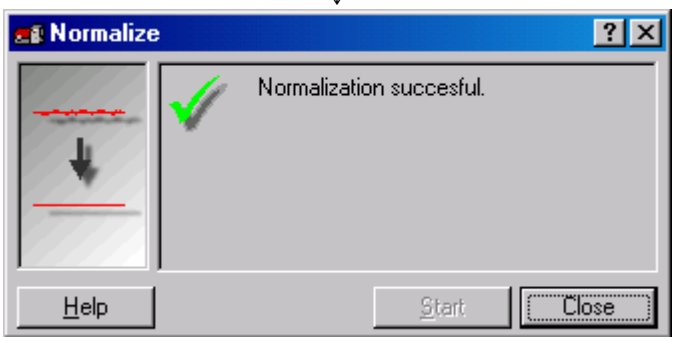


チップをインジェクションポートにセットし、**Stat** をクリックする。

↓



↓



約 3 分後上記ボックスが表示される。**Close** をクリックして Normalize を終了する。

補足 4　チップ、インジェクションポートについて

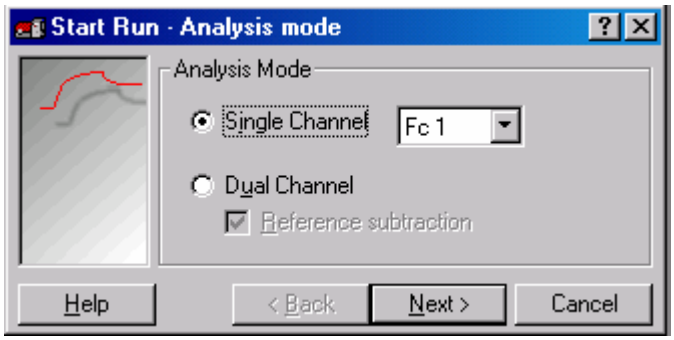
本システムで使用できるチップの容量は下記の 2 種類である。
使用するチップによって、対応するインジェクションポートをつけ替える必要がある。

100～250µl	Injection port type2
1000µl	Injection port type3

3.　基本操作

3.1.　測定の開始

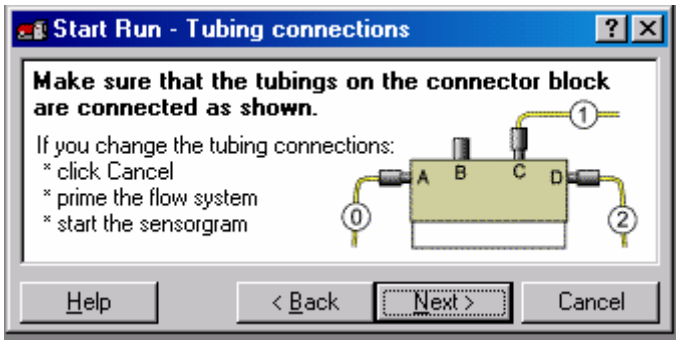
もしくは **Run→Start...**をクリックする。



Single Channel を選択し、**Next>**をクリックする。

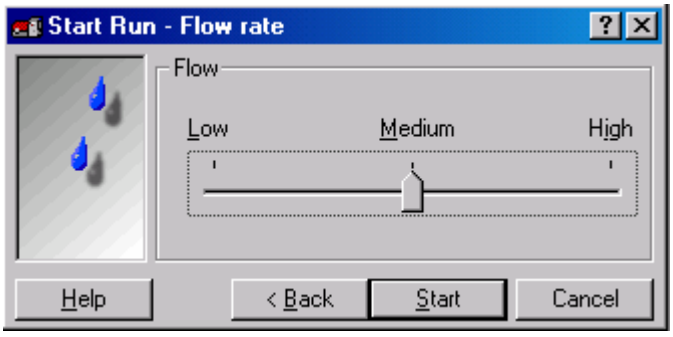
Single Channel は、1 つのフローセルのみの測定を、Dual channel は、同時に 2 つのフローセルの測定を行う時に選択する。

↓



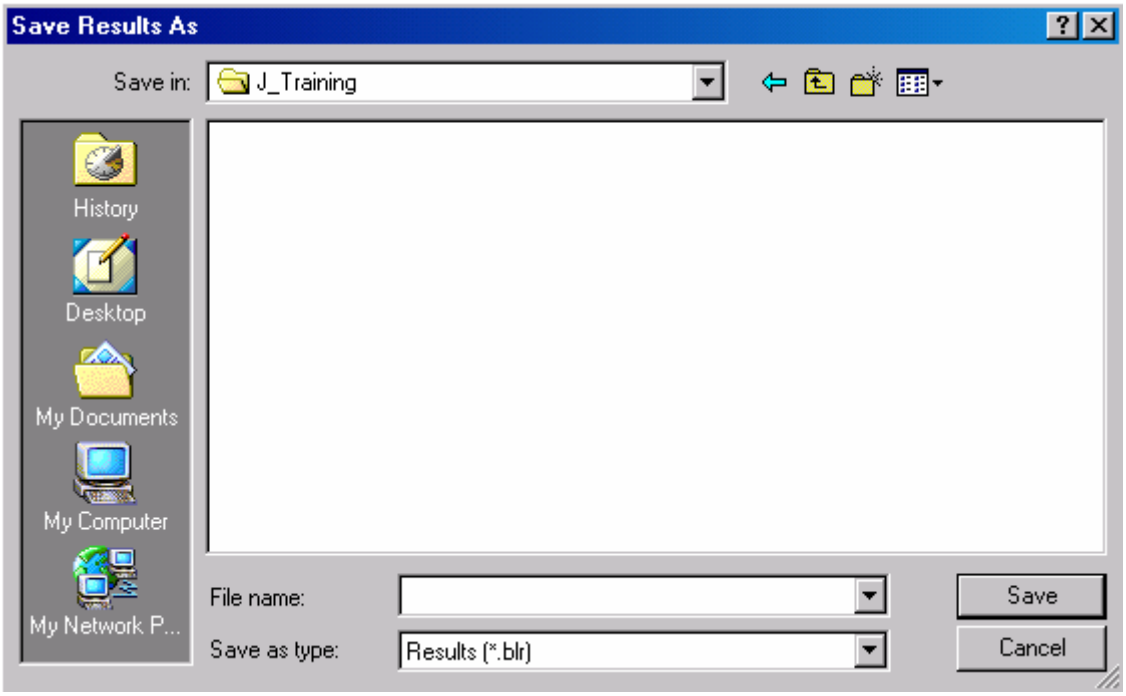
チュービングの接続を確認し、**Next>**をクリックする。

↓



流速を Low、Medium、High の中から選択し、**Start** をクリックする。

↓

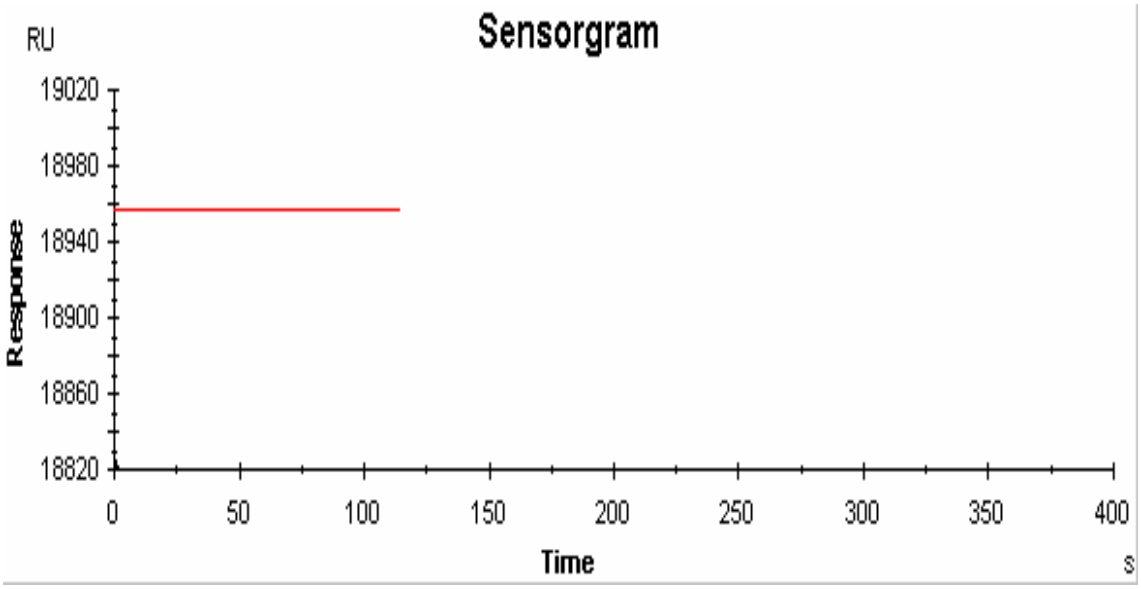


保存先を指定する。

Save in:の を使用し、保存先である自分のフォルダー(C:/Bia Users/各自のフォルダー等)を指定し、**File name:**にファイル名を入力した後、**Save** をクリックする。

（注）保存は必ず C ドライブの中の Bia Users の中に行う。

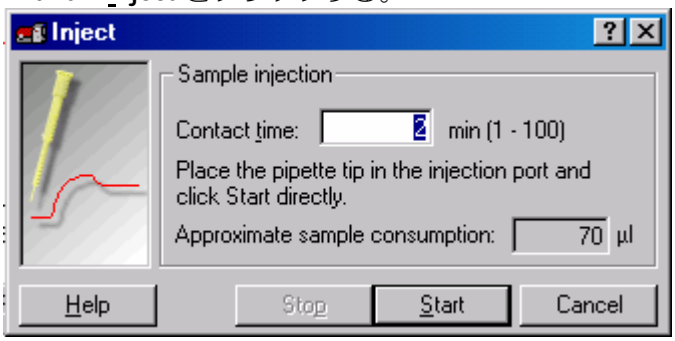
↓



センサーグラムがスタートする。

3.2. 試料溶液の添加

もしくは **Command→Inject** をクリックする。



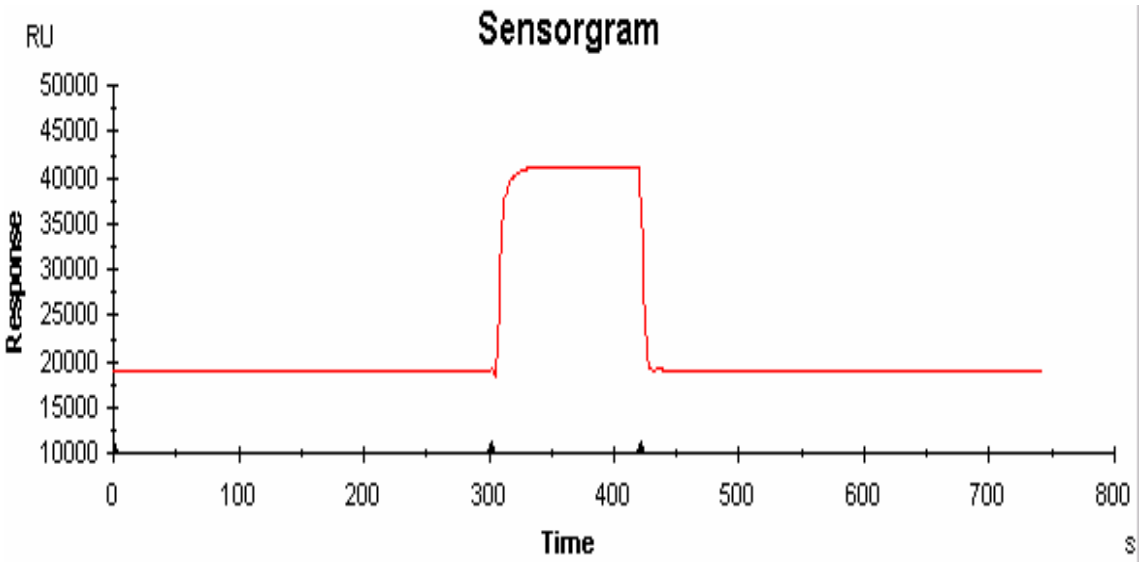
Contact time に試料溶液の添加時間を入力する。添加時間は、**最大 100 分間**まで入力可能である。

ボックス内に表示されるサンプル消費量をマイクロピペッターで吸い、チップをインジェクションポートにセットし **Start** をクリックする。

(注意)チップのセットは、Inject のボックスを画面上に出してから行い、セット後は速やかに Start をクリックすること。

↓

(BIAmaintenance Kit 中の BIAtest solution 10µl を添加した例)



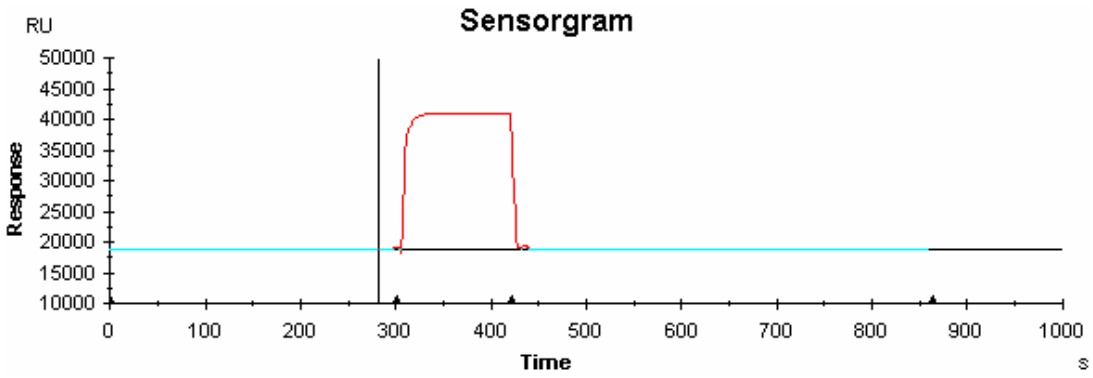
さらに試料溶液がある場合は、この操作を繰り返し行う。

3.3.　レポートポイントの取得

センサーグラム上の任意の時間のレスポンス(RU)をセンサーグラム下の**レポートポイントテーブル**に表示させる。

もしくは **View→Reference Line** をクリックする。

↓

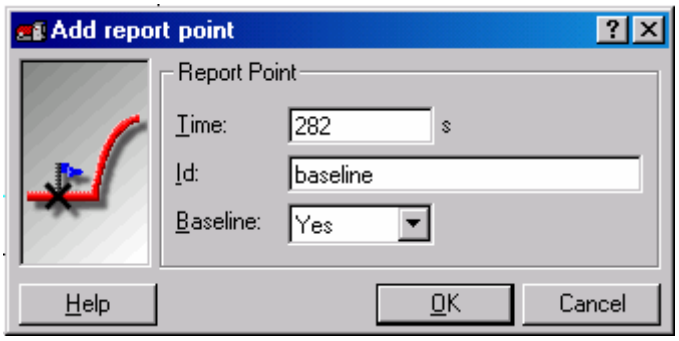


ポインターをリファレンスラインの縦軸上に移動するとポインターが左右に開いた矢印の形に変わる。この状態でポインターをドラッグしレポートポイントをとりたい位置に移動する。もしくは、センサーグラム上でレポートポイントをとりたい位置でクリックする。

↓

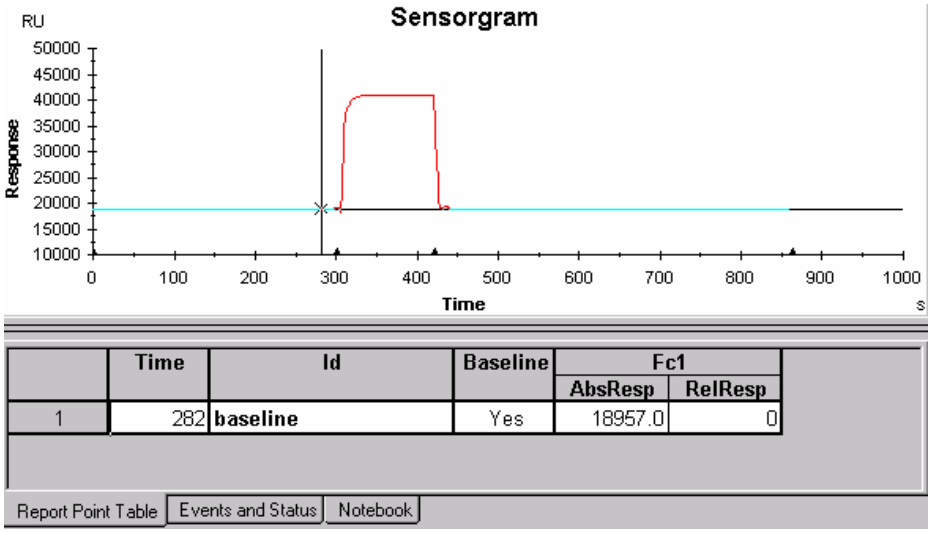
もしくは **Edit→Add report point** をクリックする。

↓



Add report point のボックスの **Id** にコメントを入力し、**OK** をクリックすると、センサーグラム下のレポートポイントテーブルにその時点での RU 値が記録される。その時点におけるレポートポイントを相対値 0RU としたい場合は、**Baseline** で Yes を選択しておく。

↓



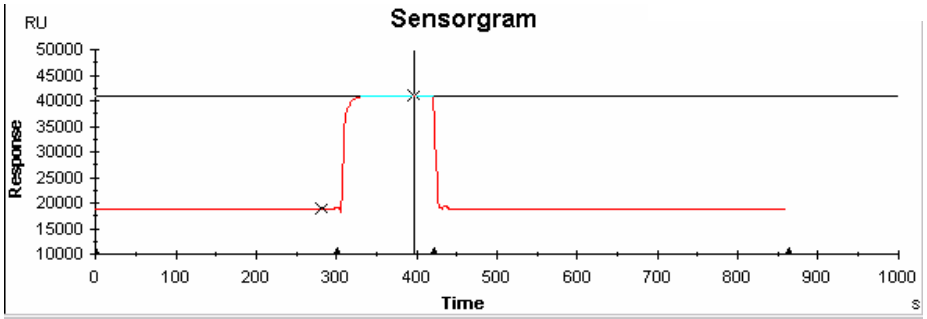
	Time	Id	Baseline	Fc1	
				AbsResp	RelResp
1	282	baseline	Yes	18957.0	0

Report Point Table | Events and Status | Notebook

↓

さらにレポートポイントを取得する場合は、再びリファレンスラインを移動後、 もしくは **Edit→Add report point** を繰り返し行う。

↓



	Time	Id	Baseline	Fc1	
				AbsResp	RelResp
1	282	baseline	Yes	18957.0	0
2	397	15%sucrose	No	41144.7	22187.7

Report Point Table | Events and Status | Notebook

↓

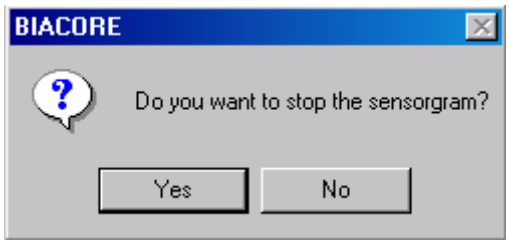
必要なレポートポイント取得後、 もしくは **View→Reference Line** をクリックし、センサーグラム上のリファレンスラインを消す。

補足 5　レポートポイントについて

- レポートポイントは測定中、測定終了後、以前に保存したデータを再び呼び出したとき等、いつでも取得することができる。ただし、測定終了以降に新たに作成したレポートポイントのデータを保存するためには、上書き保存する。
- 取得したレポートポイントを訂正または削除する場合、レポートポイントテーブル上の文字列を右クリックすることで、Edit、Delete 等のメニューを選択することができる。

3.4.　測定の終了

もしくは **Run→Stop...**をクリックする。



Yes をクリックして、測定を終了する。

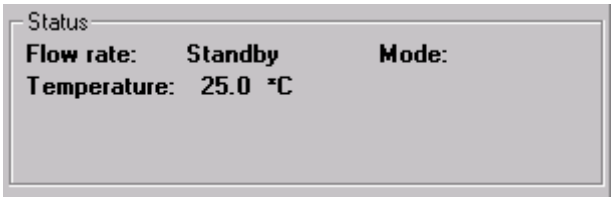
↓

自動的に Standby 状態に入る。

補足 6　測定終了後のシステム本体の状態

・画面右下の Status Window 中の Flow rate が Standby の表示になる。

・測定終了後、自動的に Standby 状態に入る。Standby とはシステム内にランニング緩衝液を低流速で送液するコマンドである。これにより、流路内での塩の析出を防ぎ、流路が詰まることを予防する。



3.5.　データのクローズ

File→Close をクリックする。

（注意）新たな測定を開始するときは、画面上のデータをクローズしてから行うようにする。画面上にデータを出したまま、新たな測定を開始すると、誤って上書きする危険があるので注意する。

4. 固定化

相互作用を検討する分子間で、センサーチップ表面に固定化する分子を**リガンド**と呼ぶ。リガンドの精製度は、相互作用検討時における結合の特異性やキャパシティーに大きく影響するため非常に重要な要因となる。精製度 **90%以上**のリガンドの使用をおすすめする。

センサーチップ CM5 を使用する固定化法には、アミンカップリング、チオール(リガンドチオール,サーフェイスチオール)カップリング、アルデヒドカップリングがある。

アミンカップリング

リガンドの表面に存在するアミノ基(N 末端アミノ基あるいはリジンの ε アミノ基)を利用して固定化する方法。

リガンドチオールカップリング

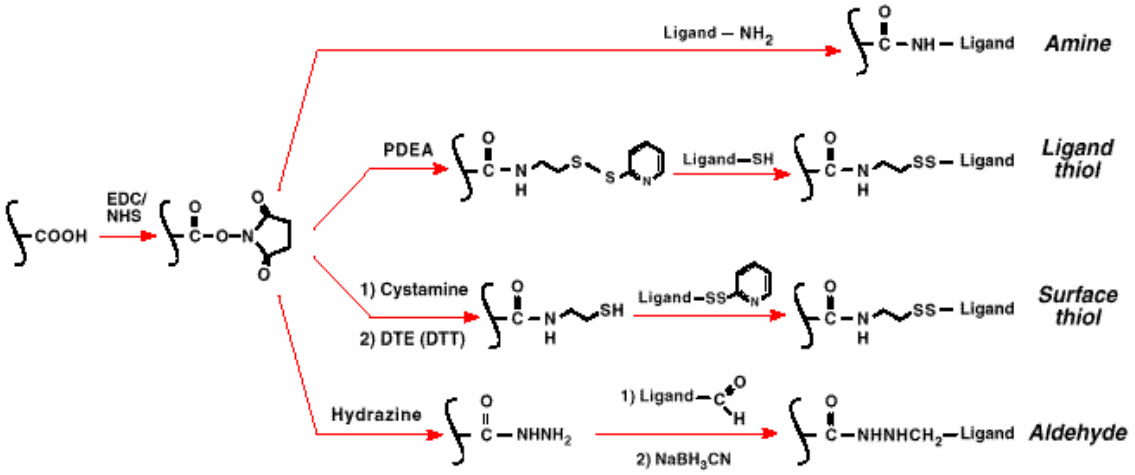
リガンドの表面に存在する遊離型チオール基を用いて固定化する方法。

サーフェイスチオールカップリング

センサーチップ表面にチオール基を導入し、リガンドのカルボキシル基を介して固定化する方法。

アルデヒドカップリング

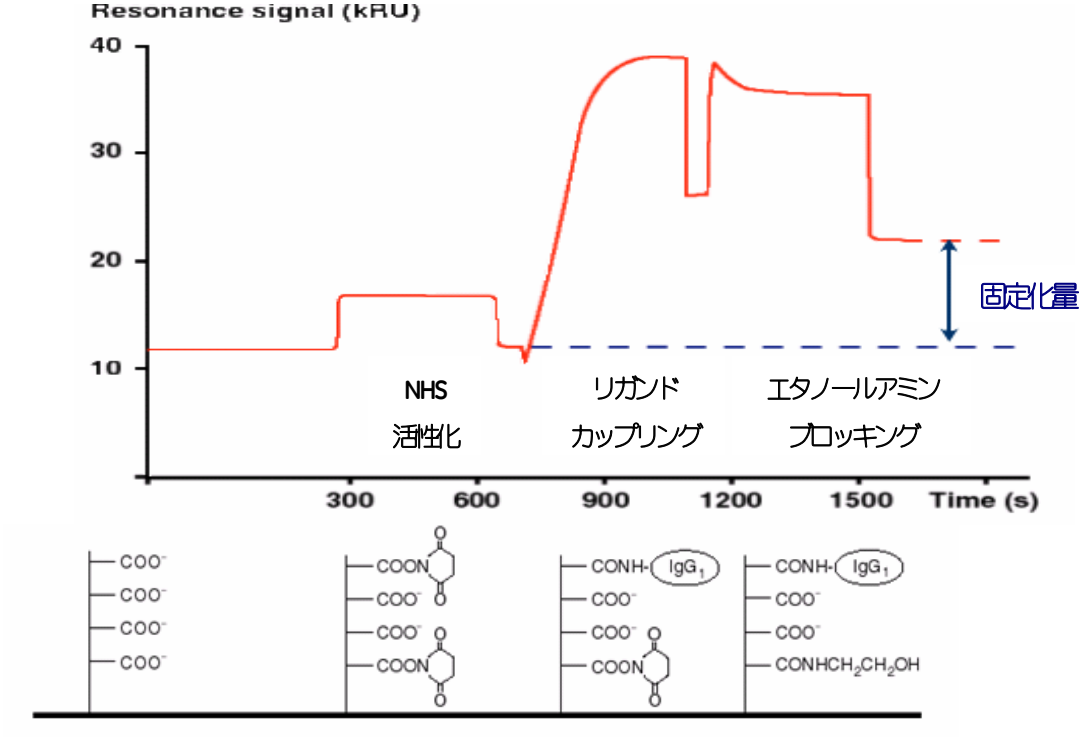
糖鎖の非還元末端をメタ過ヨウ素酸により解裂させアルデヒド基を作成し、ヒドラジンでアミノ基を導入したセンサーチップにシッフ塩基で固定化する方法。大量の糖鎖を持つムチンタンパク質等の固定化に使用する。



この章では、最も汎用性の高いアミンカップリングについて解説を行う。

4.1.　アミンカップリング

センサーチップ表面の CM デキストラン中のカルボキシル基を NHS/EDC 混合液を反応させ NHS 活性化し、アミノ基を持つリガンドと結合させる方法である。リガンドとの結合後、残存活性 NHS 基をエタノールアミンでブロッキングすることで固定化が完了する。



＜準備するもの＞

・Sensor Chip CM5
・ランニング緩衝液（トリス、グリシンなどのアミン系物質を含まないもの。）
・アミンカップリングキット
・リガンド
・リガンド希釈液（10mM 酢酸緩衝液、ホウ酸緩衝液）

●アミンカップリングキットについて

EDC (N-Ethyl-N'-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide hydrochloride)	粉末
NHS (N-Hydroxysuccinimide)	粉末
1M Ethanolamine hydrochloride (pH8.5)	溶液

キットに同封の説明書に従って調製する。EDC,NHSは、10 mlのMilliQ®水に溶解し、直ちに200μlずつ分注して、使用直前まで遮光冷凍(-20℃以下)保存する。1M Ethanolamine hydrochlorideはそのまま4℃保存する。

●タンパク質, ペプチドリガンドの調製

終濃度 **10～100 µ g/ml** になるよう **10mM 酢酸緩衝液**に希釈する。希釈する 10mM 酢酸緩衝液の pH は、リガンドの等電点(pI)よりも 1～2 低いものを使用する。

リガンドの等電点が不明な場合には、補足 7 を参考にして、至適な pH の検討を行う。また、等電点がわかっている場合でも補足 7 を参考にして確認を行うことをお勧めする。

(注) 求核性物質(アジ化ナトリウム等)または高濃度（終濃度 50mM）の塩は、固定化を妨げる。この場合、十分に希釈倍率を上げるか、または緩衝液置換を行う。

●ペプチド,低分子リガンドの調製

終濃度 **100 µ g/ml 以上**になるよう 10mM ホウ酸緩衝液 pH8.5（10mM disodium tetraborate pH8.5, 1M NaCl）に希釈する。

補足 7　リガンド希釈液の至適 pH の選択

プレコンセントレーション効果

リガンドを等電点(pI)より低い pH の緩衝液で希釈することにより、リガンド表面を正に荷電させ、デキストラン層にリガンドをイオン交換的に濃縮させる効果のことである。至適 pH の緩衝液に希釈することで、低濃度のサンプルを効率よく固定化することができる。プレコンセントレーション効果が得られない場合には、アミンカップリング法での固定化は困難である。

プレコンセントレーション効果の検討

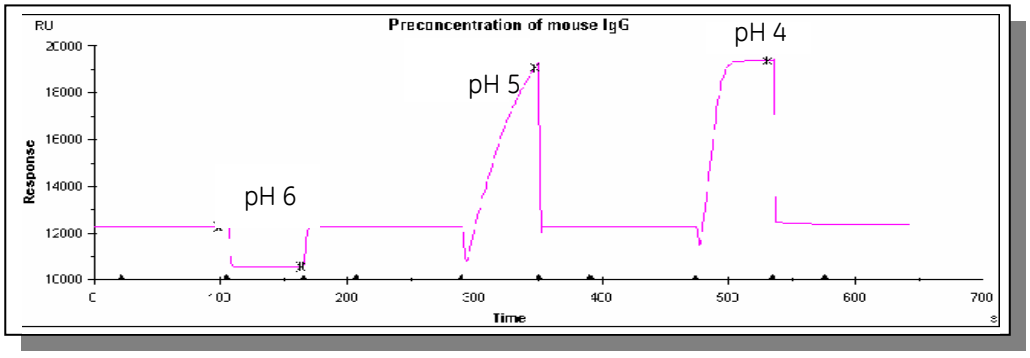
サンプル調製例

リガンドを終濃度で 10 µ g/ml になるように各緩衝液で希釈する。

10mM 酢酸ナトリウム緩衝液 (pH 6.0)
10mM 〃 (pH 5.0)
10mM 〃 (pH 4.0)

未処理のフローセルに、上記リガンド溶液を流速 medium で 2 分間ほど添加し、プレコンセントレーション効果が得られる pH を確認する。下のセンサーグラムは、リガンドとしてマウス IgG を使用し、pH6.0、5.0、4.0 の 10mM 酢酸緩衝液で検討を行ったものである。pH5.0 もしくは pH4.0 でプレコンセントレーション効果が見られているのがわかる。この場合、サンプルの安定性を考慮し、より中性に近い pH5.0 を選択するとよい。

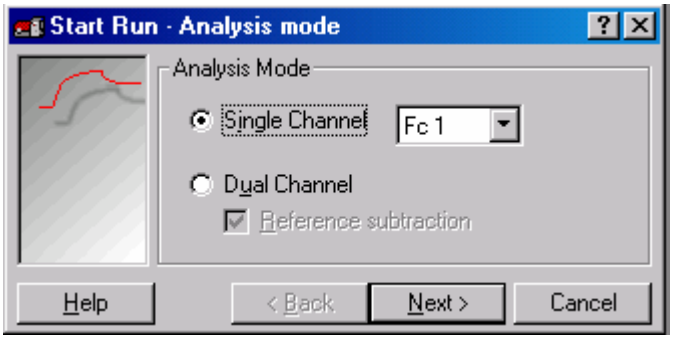
この操作により、リガンドがデキストランに非特異的吸着を起こす場合 50mM NaOH 等を 1 分程度添加しセンサーチップ表面を洗浄する。プレコンセントレーション効果の検討を行ったフローセルは、改めて固定化操作に使用することができる。



ここで得られた至適 pH の緩衝液にサンプルを希釈して固定化を行う。

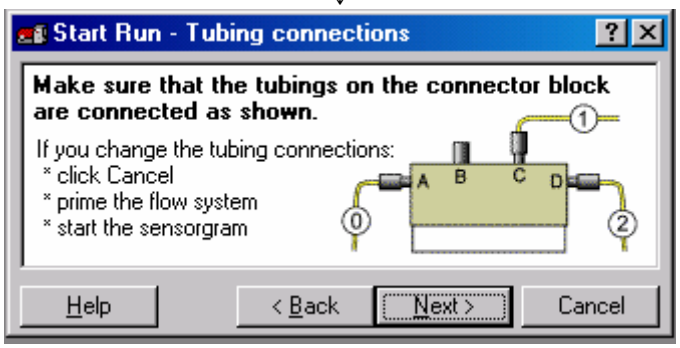
4.2. リガンドの固定化

もしくは **Run→Start...**をクリックする。



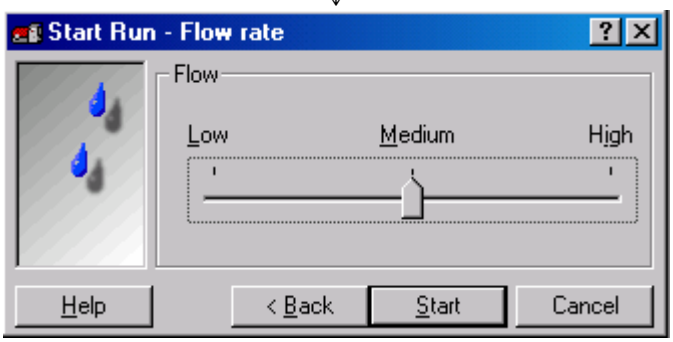
Single Channel を選択し、**Next>**をクリックする。

↓



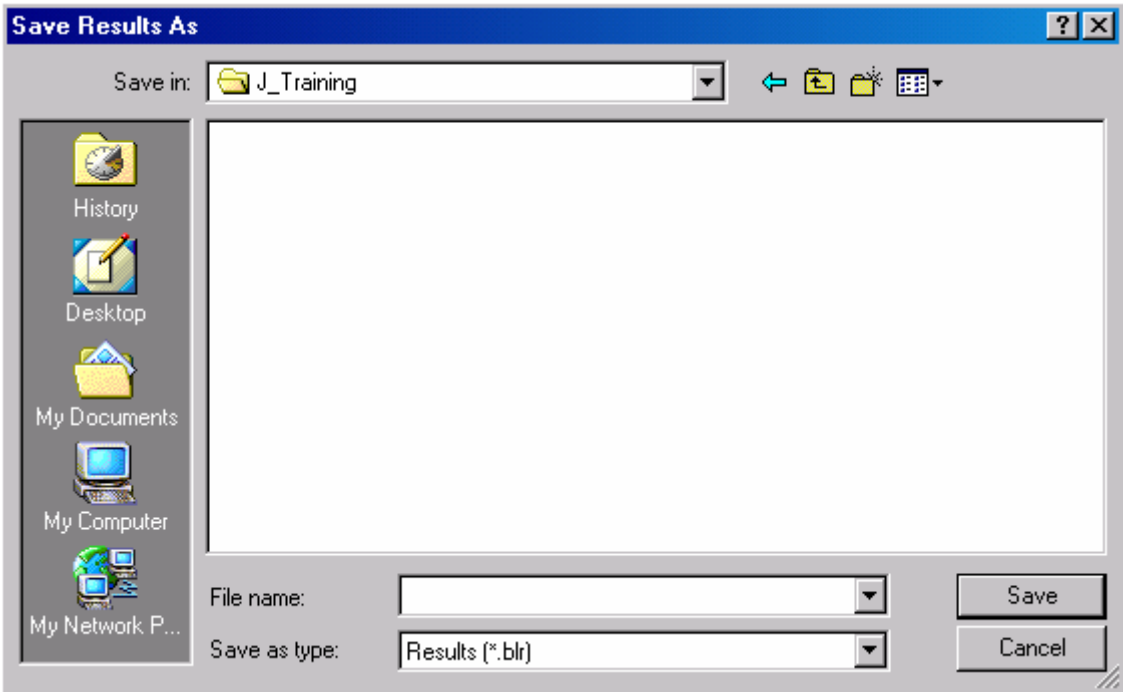
チュービングの接続を確認し、**Next>**をクリックする。

↓

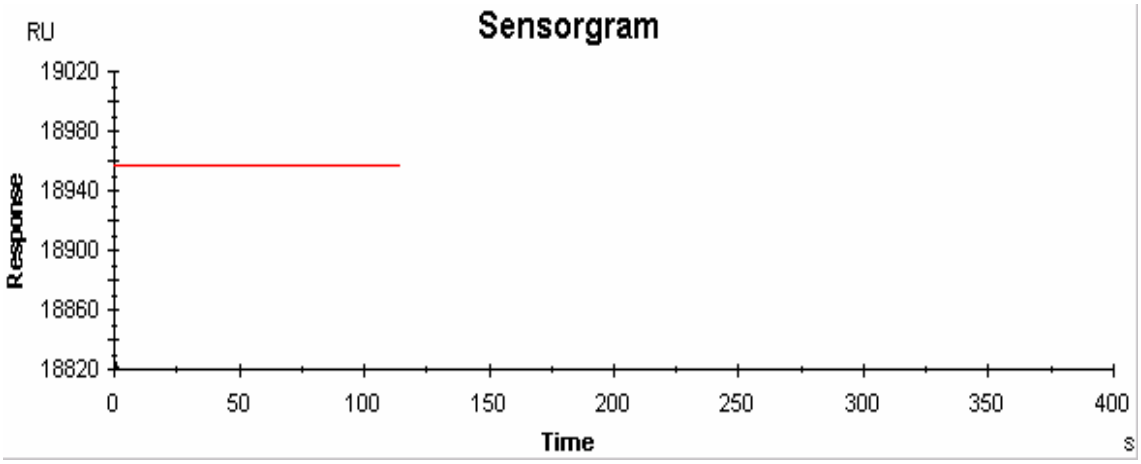


Medium を選択し、**Start** をクリックする。

↓



保存先を指定し、ファイル名を入力後、**Save** をクリックする。



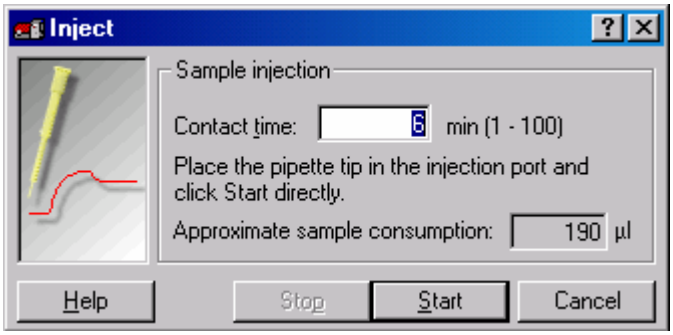
センサーグラムがスタートする。

↓

（NHS/EDC 混合液の添加）

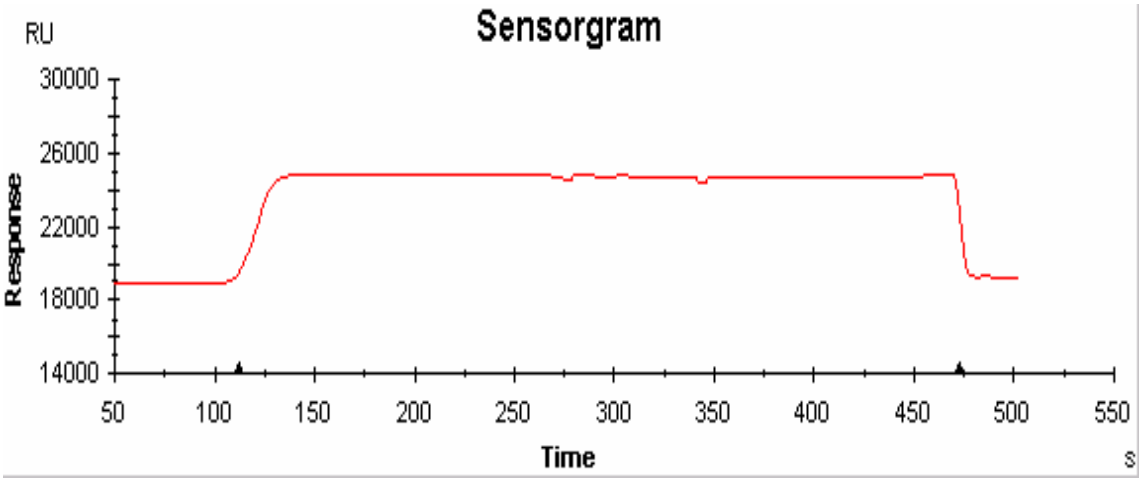
活性化に使用する NHS と EDC を添加直前に溶解し、1:1 で混合する。

もしくは **Command→Inject** をクリックする。



添加時間 **6** 分を入力し、ボックス内に表示される必要量の NHS/EDC 混合液をマイクロピペッターで吸い、チップをインジェクションポートにセットし **Start** をクリックする。

↓

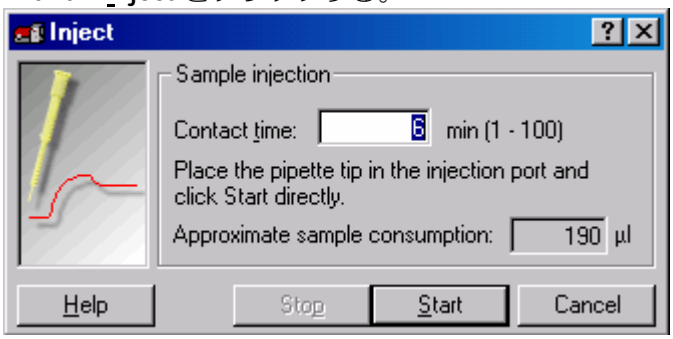


↓

（リガンド溶液の添加）

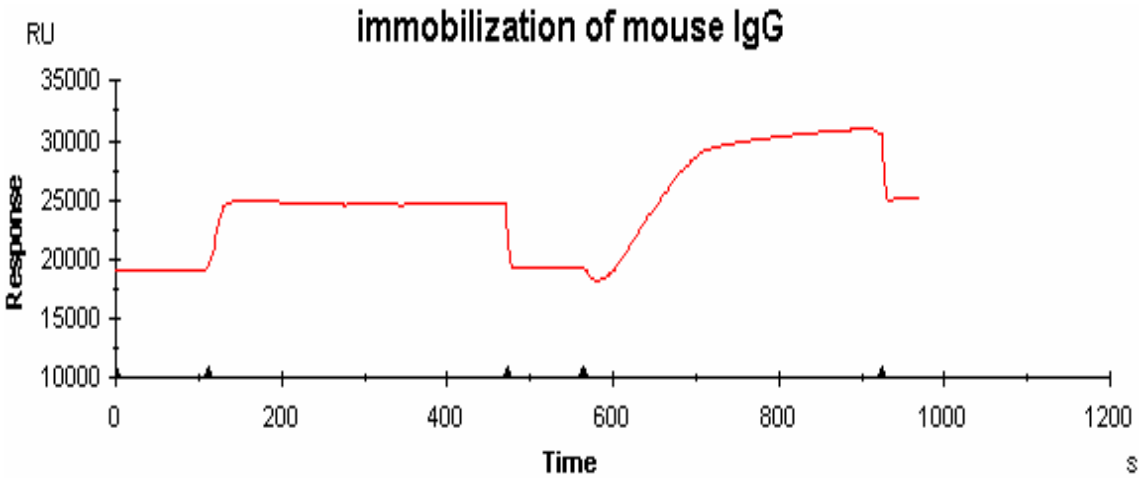
リガンドを 10～100 µ g/ml となるよう、10mM 酢酸緩衝液で希釈する。（補足 7 参照）

もしくは **Command→Inject** をクリックする。



添加時間 **6** 分を入力し、調製したリガンド溶液をマイクロピペッターで吸い、チップをインジェクションポートにセットし **Start** をクリックする。

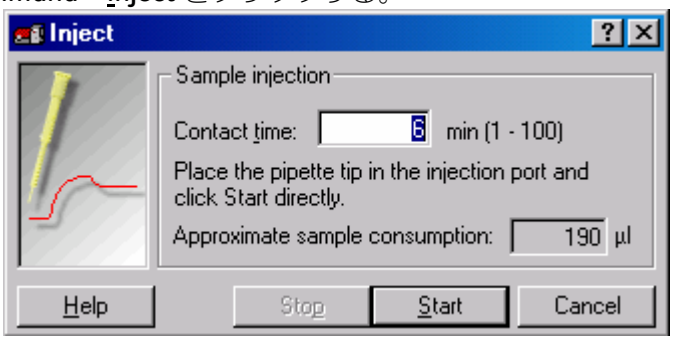
↓



↓

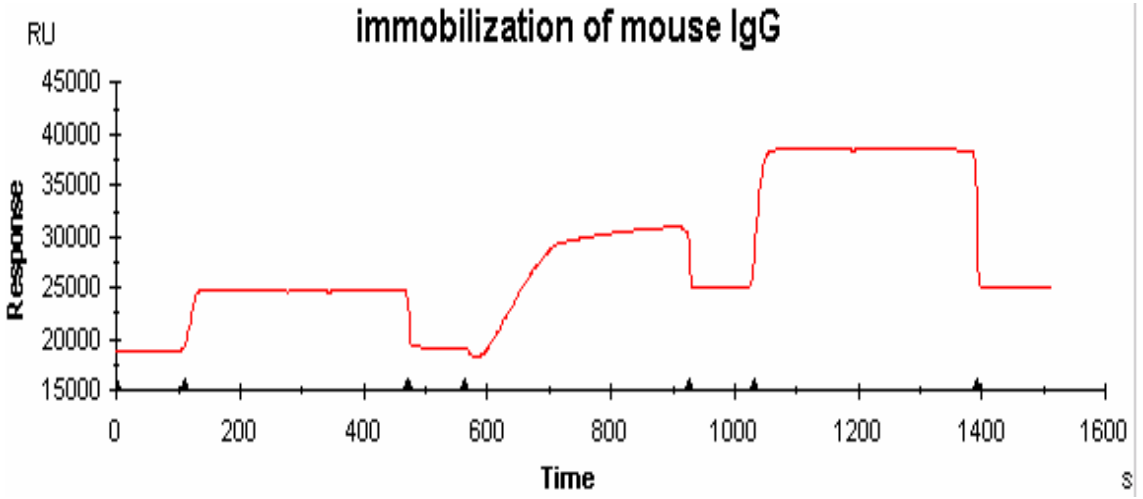
（エタノールアミンの添加）

もしくは **Command→Inject** をクリックする。



添加時間 **6** 分を入力し、1 M Ethanolamine hydrochloride をマイクロピペッターで吸い、チップをインジェクションポートにセットし **Start** をクリックする。

↓



4.3. 固定化量の確認

NHS/EDC の添加前とエタノールアミン添加後でレポートポイントをとる。**両レポートポイントのシグナルの差を、リガンドの固定化量とする。**

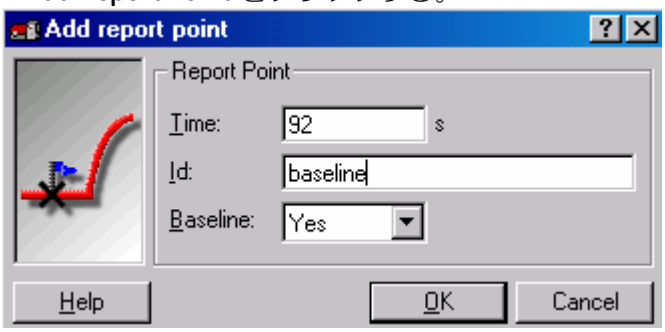
もしくは **View→Reference Line** をクリックし、センサーグラム上にリファレンスラインを表示させる。

↓

NHS/EDC 添加 20 秒程度前にリファレンスラインを移動する。

↓

もしくは **Edit→Add Report Point** をクリックする。



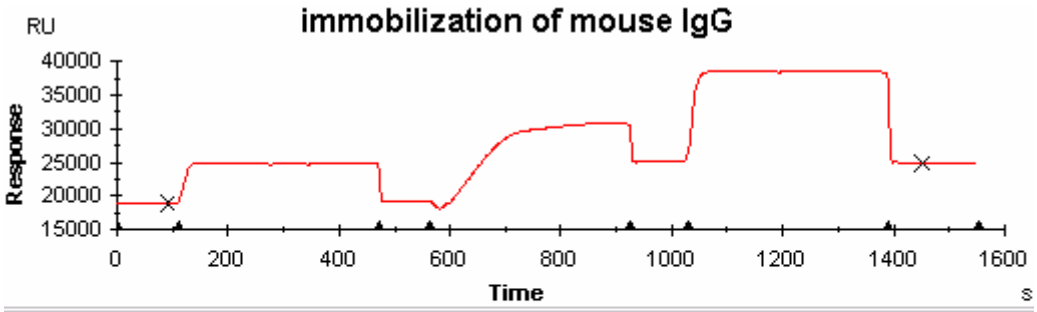
Add report point ボックスの **Id** にコメントを入力し、**Baseline** で **Yes** を選択し、**OK** をクリックする。

↓

エタノールアミン添加後 30～60 秒のところにリファレンスラインを移動後、もしくは **Edit→Add Report Point** をクリックする。Add Report Point のボックス中の Id にサンプル名等のコメントを入力し **OK** をクリックする。

↓

もしくは **View→Reference Line** をクリックし、センサーグラム上からリファレンスラインを消去する。

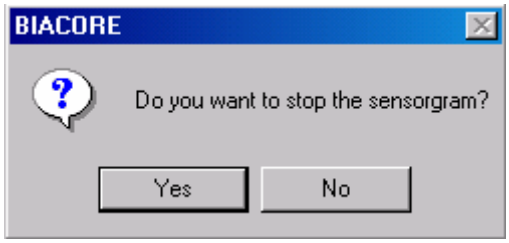


	Time	Id	Baseline	Fc1	
				AbsResp	RelResp
1	92	**baseline**	Yes	18979.4	0
2	1452	**immob**	No	24913.0	5933.6

1000RUの変化量は約 **1ng/mm²**の質量変化に相当する。上記の場合、固定化操作前後のRUの変化は、5933.6RU、従ってリガンドは 5.9336ng/mm²固定化されたことになる。（なお、一つのフローセルの面積は 1.25 mm²である。）

1000RU = 1ng/mm²

もしくは **Run→Stop...**をクリックする。



Yes をクリックして、固定化を終了する。

↓

自動的に Standby の状態に入る。

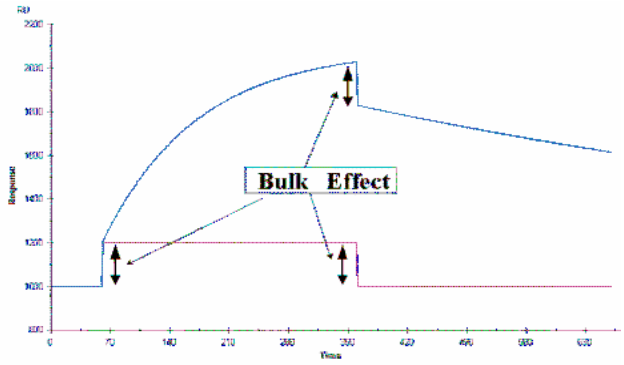
4.4.　データのクローズ

File→Close をクリックする。

5. 相互作用測定

固定化されたリガンドに対し相互作用の測定を行う分子を**アナライト**と呼ぶ。アナライトは、必ずしも精製されている必要はない。血清や培養上清等のクルードなサンプルも使用することができる(不溶性の粒子は、遠心等で取り除いておく必要がある)。反応速度定数を算出する場合には、精製されたアナライトを用いることをお勧めする。

アナライトの調製には、**ランニング緩衝液**を用いる。ランニング緩衝液とアナライト溶液が著しく異なる場合、センサーグラム上に溶液効果(Bulk Effect)が現れる。必要がある場合には、アナライトをランニング緩衝液にバッファー交換するか、ランニング緩衝液をアナライト溶解液に合わせる。



アナライトの濃度は、アナライトの分子量やアフィニティーの強さに依存する。リガンドとアナライトの解離定数(K_D)が予測できる場合は、**解離定数(K_D)前後**の濃度に調製する。予測不能な場合は **10～100 µ g/ml**程度に希釈する。また、反応速度定数等の定数算出を行う場合、アナライトの濃度は 5 段階以上調製し測定を行う。

再生溶液の検討

結合したアナライトを強制的に解離させる操作を再生(Regeneration)という。再生の操作は、再生溶液を 1 分間程度添加することで行う。十分再生されない場合は、この短時間の添加を繰り返し行う。

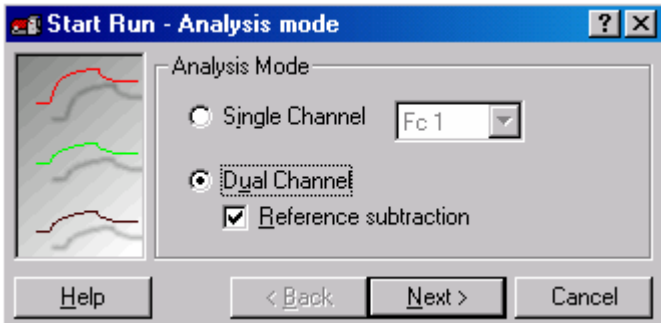
一般的に再生溶液として、次のページのようなものがある。結合したアナライトが完全に再生され、かつ固定化したリガンドの活性が保持される条件を選ぶ必要がある。再生溶液の検討時は、**マイルドな溶液から試していく。**

再生溶液の例

	試薬	濃度または pH
塩	NaCl	＜3M
	$MgCl_2$	＜4M
酸	10mM Glycine-HCl	＞pH 1.5
	HCl	＜100mM
	Formic acid	＜20%
アルカリ	10mM Glycine-NaOH	＜pH 12
	NaOH	＜100mM
キレート剤	EDTA	＜0.35M
	EGTA	＜0.35M
界面活性剤	Surfactant P-20(Tween 20)	＜5%
	Triton X-100	＜5%
	SDS	＜0.5%
	Octylglucoside	＜40mM
有機溶媒	Acetonitrile	＜20%
	DMSO	＜8%
	Ethyleneglycol in HBS buffer	＜50%
	Ethanol	＜20%
	Formamide	＜40%
変性剤	Guanidine-HCl	＜5M
	Urea	＜8M

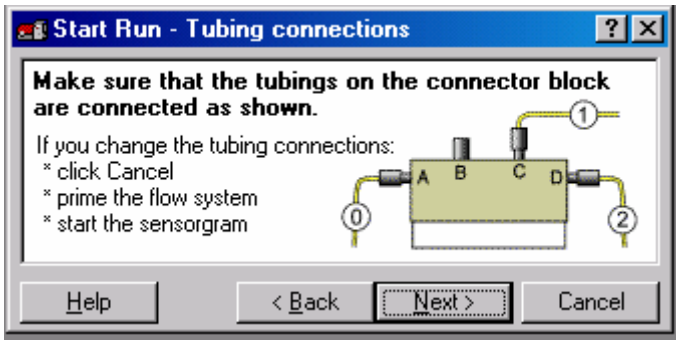
5.1. 測定の開始

もしくは **Run→Start...**をクリックする。



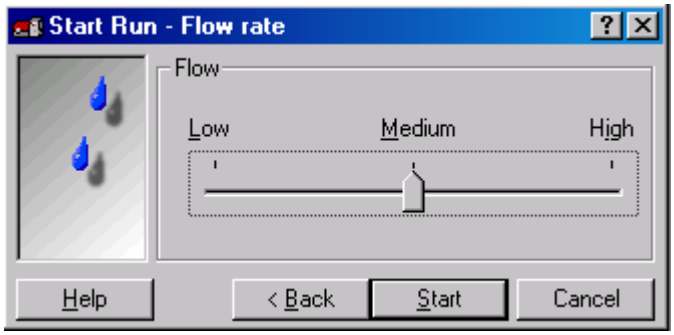
Dual Channel を選択し、**Reference subtraction** にチェックを入れて **Next>**をクリックする。

↓



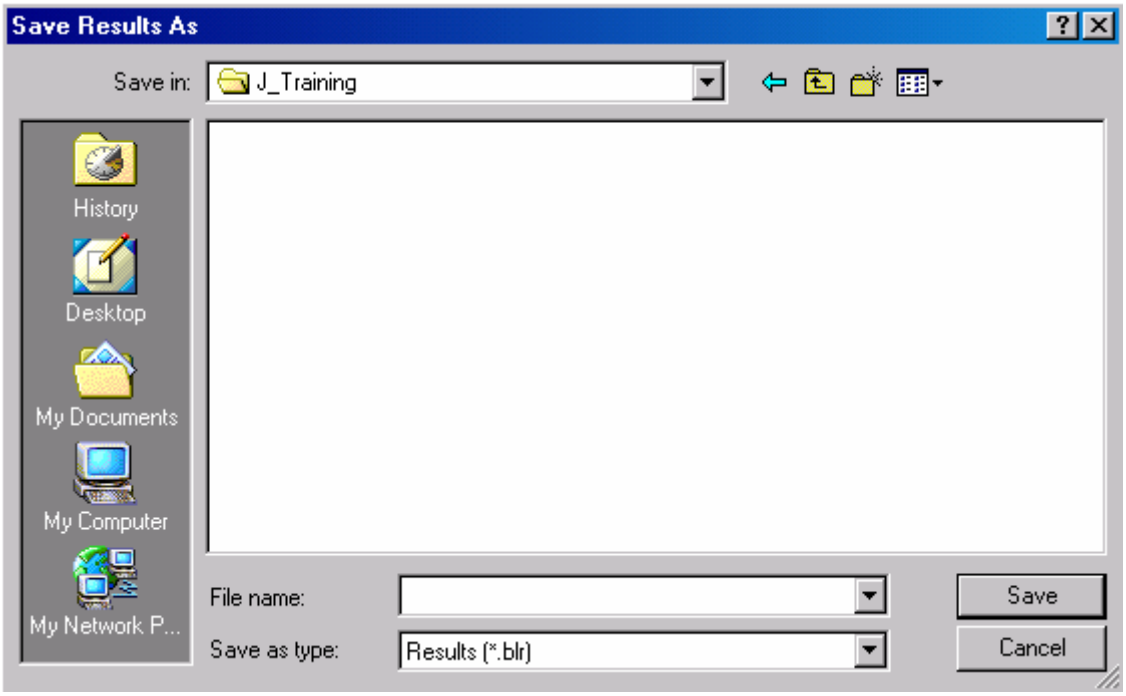
チュービングの接続を確認し、**Next>**をクリックする。

↓



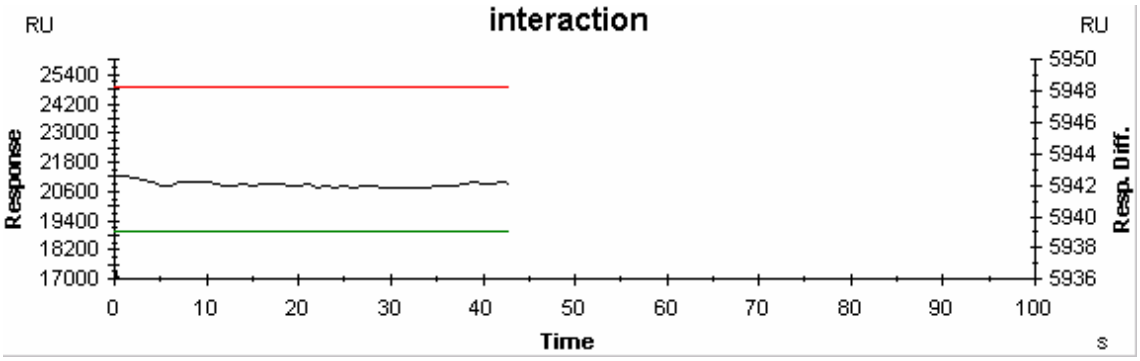
Medium を選択し、**Start** をクリックする。

↓



保存先を指定し、ファイル名を入力後、**Save** をクリックする。

↓



センサーグラムがスタートする。

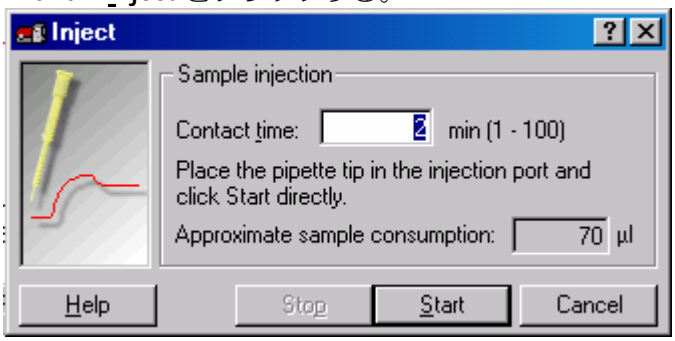
補足 8　センサーグラムの表示

・Dual channel を選択して Reference subtraction を設定している場合には、Fc1：赤、Fc2：緑、差し引きデータ：黒、で表示される。

・Fc1、Fc2 のデータの目盛りは画面左の Response で表示され、差し引きデータの目盛りは画面右の Resp.Diff.で表示される。

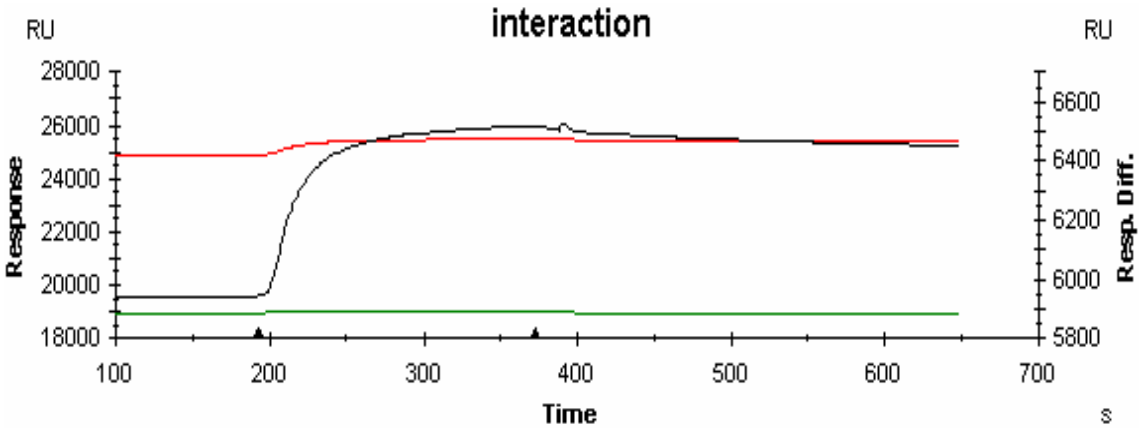
5.2. アナライトの添加

もしくは **Command→Inject** をクリックする。



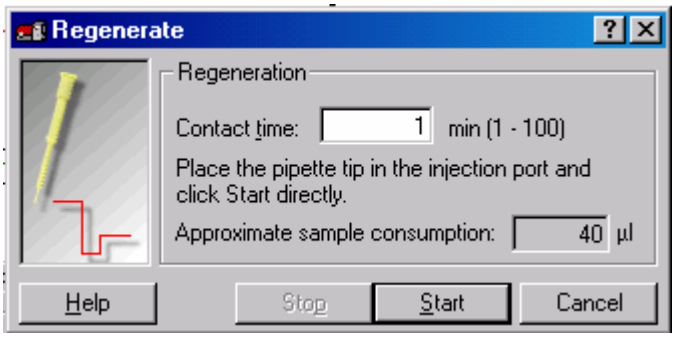
添加時間を入力する。通常 2～5 分間。ボックス内に表示されるサンプル必要量をマイクロピペッターで吸い、チップをインジェクションポートにセットし **Start** をクリックする。

↓

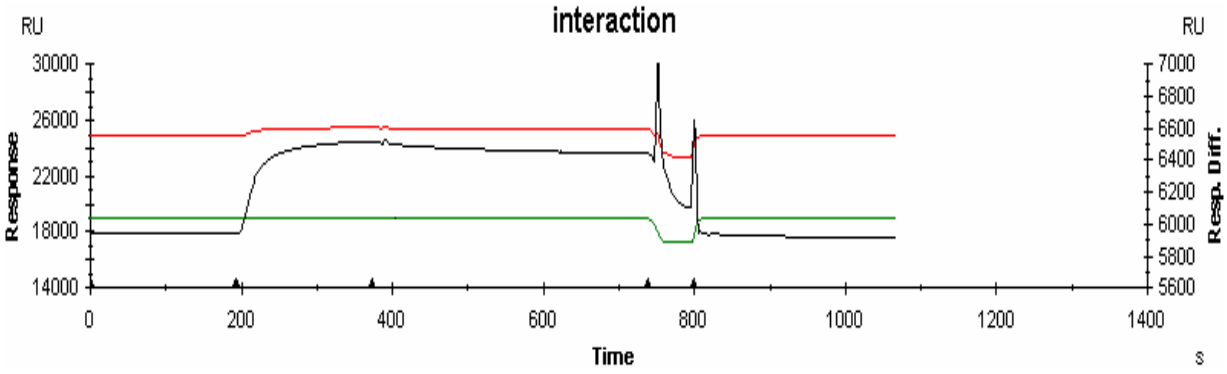


5.3. 再生溶液の添加

（緑色）もしくは **Command→Regenerate** をクリックする。



添加時間 1 分間を入力する。ボックス内に表示される必要量の再生溶液をマイクロピペッターで吸い、チップをインジェクションポートにセットし **Start** をクリックする。



アナライトが解離しているか否かは、差し引く前の各フローセルのセンサーグラムを見るとわかりやすい。

5.4.　結合量と再生の確認

通常アナライト添加前後と再生操作終了後で 3 つのレポートポイントをとる。解離速度が非常に早く、箱型のセンサーグラムになる場合、アナライト添加終了前でレポートポイントをとる場合もある。

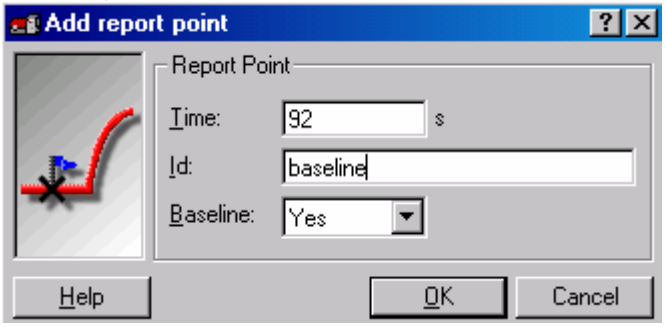
もしくは **View→Reference Line** をクリックする。

↓

アナライト添加 10～20 秒程度前にリファレンスラインを移動する。

↓

もしくは **Edit→Add Report Point** をクリックする。



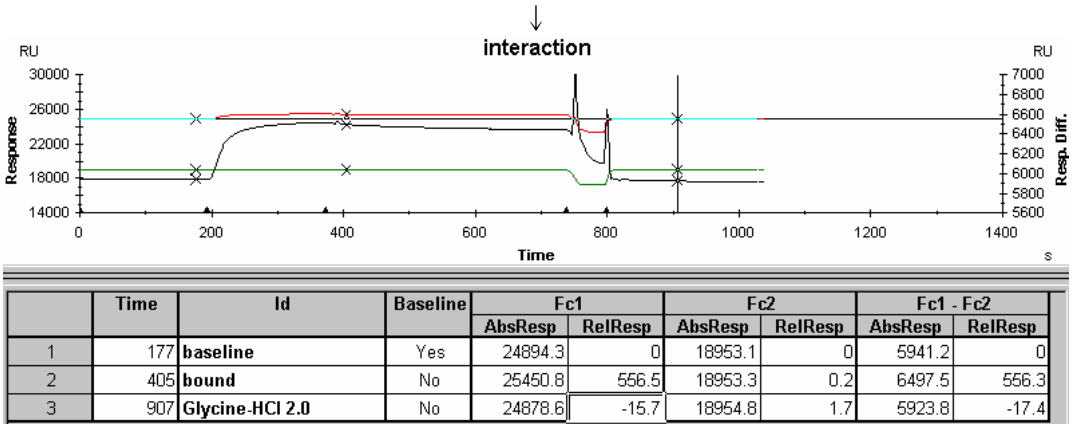
Add Report Point のボックスの Id に baseline 等のコメントを入力し、**Baseline** をチェックして、**OK** をクリックする。

↓

再び、リファレンスラインをアナライト添加後 10～20 秒程度のところに移動後、 もしくは **Edit→Add Report Point** をクリックする。Add Report Point のボックスの Id にサンプル名、濃度等のコメントを入力し **OK** をクリックする。

↓

リファレンスラインを再生溶液添加後 30 秒～1 分程度のところに移動後、 もしくは **Edit →Add Report Point** をクリックする。Add Report Point のダイアログボックスの Id に再生溶液名等のコメントを入力し **OK** をクリックする。



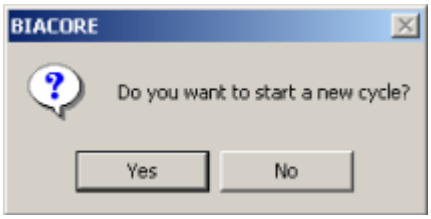
	Time	Id	Baseline	Fc1		Fc2		Fc1 - Fc2	
				AbsResp	RelResp	AbsResp	RelResp	AbsResp	RelResp
1	177	**baseline**	Yes	24894.3	0	18953.1	0	5941.2	0
2	405	**bound**	No	25450.8	556.5	18953.3	0.2	6497.5	556.3
3	907	**Glycine-HCl 2.0**	No	24878.6	-15.7	18954.8	1.7	5923.8	-17.4

もしくは **View→Reference Line** をクリックする。センサーグラムからリファレンスラインを消去する。

5.5. 新規サイクルへの変更

引き続き、相互作用測定を行うアナライトがある場合、同一ファイル内に別サイクルとしてデータを保存していくことができる。

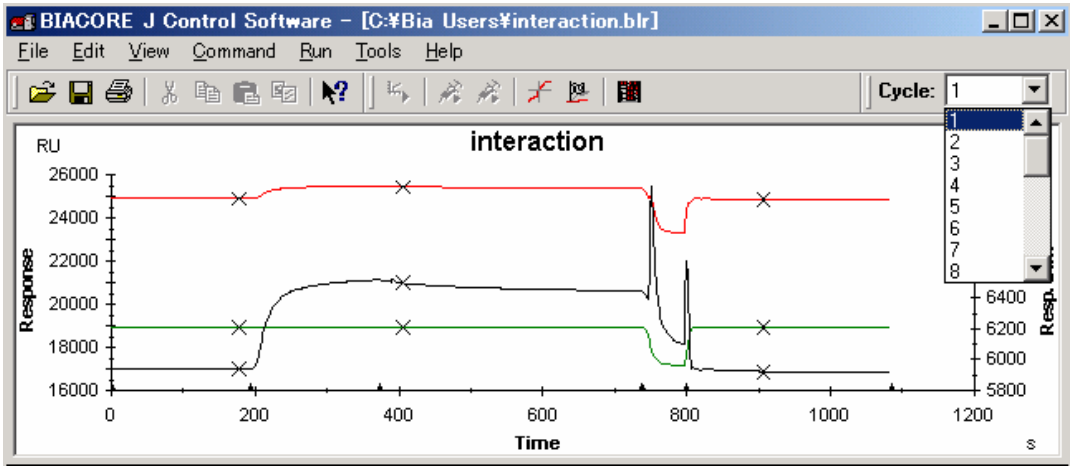
あるいは **Run→New Cycle** をクリックする。



Yes をクリックし、新しいサイクル(新しいセンサーグラム)がスタートしたら、次のアナライトに対する測定を開始する。

補足 9　複数のサイクルを持ったファイルの保存様式

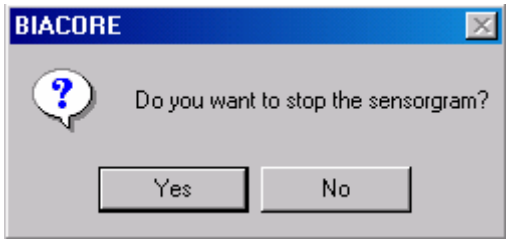
複数のサイクルを持ったファイルは、下記のような様式で保存される。



Tool bar 中の **Cycle** の▼で目的のサイクル番号を選択する。

5.6.　測定の終了

もしくは **Run→Stop...**をクリックする。



Yes をクリックして、測定を終了する。

↓

自動的に Standby 状態に入る。

5.7.　データのクローズ

File→Close をクリックする。

6. システムの終了

6.1. 実験の終了

1 日の実験終了後、次の 2 つのうちのいずれかの方法で終了する。

●2～3 日以内に使用する場合 (Standby)

Tools→Standby Flow をクリックする。

Standby は、センサーチップに 5µl/min の流速で、ランニング緩衝液を最大 96 時間供給し続ける操作である。96 時間の Standby で使用するランニング緩衝液は、約 100ml である。

(Standby を途中で終了する場合は、**Command→Stop Flow** をクリックする。)

●電源を落として終了する場合 (MilliQ®水でシステム内を置換)

（注意）固定化済みセンサーチップをMilliQ®水にさらしたくない場合には、あらかじめメンテナンスセンサーチップ（あるいは不要センサーチップ）に換えておく必要がある。「6.2. センサーチップの抜き取り」と、「2.1. センサーチップの挿入とDock」を参照のこと。

① ランニング緩衝液をMilliQ®水に置き換える。

② **Tools→Change Buffer...**をクリックする。

③ MilliQ®水によるChange Buffer終了後、MilliQ®水のボトルからインレットチューブを取り出し、ランニング緩衝液の無い状態で、**Tools→Empty Flow System...**をクリックする。

引き続き「6.2 センサーチップの抜き取り」、「6.3. 締め金の解除」、「6.4. 電源のオフ」を実行する。

6.2. センサーチップの抜き取り

Command→Undock をクリックする。

Undock
Undock
Make sure that there is no pipette tip in the injection port and click on Undock.
Wait until the procedure is finished before removing the sensor chip.
Help
Undock
Cancel

ボックス中の **Undock** をクリックする。

↓

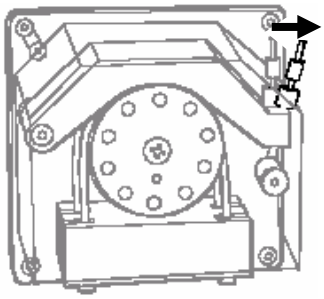
Undock が開始される。

↓

Undock が完了すると、インジケータの Sensor chip の緑ライトが点灯から点滅に変わり、画面上には自動的に Dock のボックスが開く。

センサーチップを抜き取る。画面上の Dock のボックスは **Cancel** をクリックして閉じる。

6.3.　ポンプの締め金の解除



ポンプの締め金の押さえを外し解除する。
電源を落として終了するときのみ行う。
（注意）P.33「6.1.　実験の終了」中の「2～3 日以内に使用する場合」の方法をとり、Standby を実行するときには、締め金を留めた状態で行う。

6.4.　電源のオフ

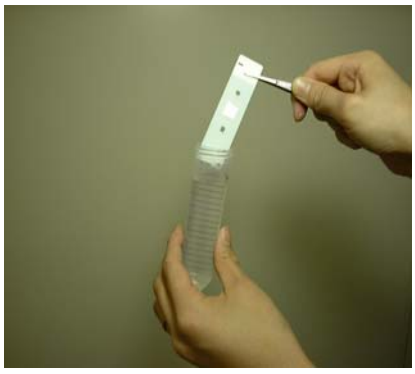
開いているファイルは **File→Close**、立ち上がっているソフトウェアは **File→Exit** で閉じる。
システム本体、コンピュータ、モニター、プリンター等の電源を落とす。

6.5.　センサーチップの保存

●乾燥法

①センサーチップ全体をパラフィルムで密閉し、4℃保存。
②センサーチップ全体を 50ml ふた付きプラスチックチューブに入れ、4℃保存。

●緩衝液浸透法



センサーチップのカバーからシートを取り出し、シートだけを、緩衝液の入った 50ml ふた付きプラスチックチューブに入れ、4℃保存。
再使用の際は、脱イオン水を湿らせたキムワイプ等で、金膜部分を除いた、シートのプラスチック部分をよくふき取る。金膜部分の平らな面はガラス面であるので、傷が付かないようにふき取る。金膜部分のへこんでいる面はリガンド固定化部分であるため、絶対にふき取らない。よく水滴を切り、へこみの隅に溜まった水分は、細くとがらせたキムワイプ等を隅にあて吸い取る。シートをカバーに戻す。

7.　装置のメンテナンス

使用する試薬はすべて **BIAmaintenance Kit** に含まれている。
試薬を使用するメンテナンス(**Desorb**, **Sanitize**)時には、必ず **Sensor Chip Maintenance**（あるいは不要センサーチップ）を使用すること。

7.1.　日常のメンテナンス

Prime（Tools→Prime Flow Systems...）
ポンプとマイクロ流路系をランニング緩衝液で洗浄する。(所要時間 4 分間)。
Flush（Tools→Flush...）
測定中、ポンプとマイクロ流路系をランニング緩衝液で洗浄する。

7.2.　毎週のメンテナンス

Desorb
サンプルループやマイクロ流路系等に付着したタンパク質等を除去する操作である。(所要時間約 10 分間)。週 1 回実施する。
準備するもの

- BIAdesorb solution1 (0.5 % SDS)
- BIAdesorb solution2 (50 mM glycine-NaOH pH9.5)
- Sensor Chip Maintenance
- MilliQ®水

手順

① ランニング緩衝液をMilliQ®水に変え、Sensor Chip Maintenance（もしくは不要センサーチップ）を挿入し、Dock（Command→Dock）を行う。
② Dual channel、Medium Flow にて測定を開始する。
③ BIAdesorb solution 1 を 5 分間添加する。
④ 200µl の BIAdesorb solution 1 をインジェクションポートの中にゆっくり滴下し、インジェクションポートを洗浄する。
⑤ BIAdesorb solution 2 を 5 分間添加する。
⑥ 200µl の BIAdesorb solution 2 をインジェクションポートの中にゆっくり滴下し、インジェクションポートを洗浄する。
⑦ MilliQ®水の入った洗ビン等を使用し、インジェクションポートとコネクターブロックを洗浄する。
⑧ 測定を終了し、**Standby**（**Tools→Standby Flow** ）を 30 分以上実行する。

（注意）センサーチップに固定してあるリガンドは失活するので、必ず Sensor Chip Maintenance（もしくは不要センサーチップ）を使用する。

7.3.　毎月のメンテナンス

Sanitize

微生物や病原性のあるサンプルを使用した時の殺菌操作である。月 1 回実施する。

準備するもの

・BIAdisinfectant solution

・Sensor Chip Maintenance

・MilliQ®水

手順

① BIAメンテナンスキット内の専用の容器を使用して、BIAdisinfectant solution 1.5 ml を 20 mlのMilliQ®水で希釈する。希釈液をランニング緩衝液の位置に置きChange Buffer（**Tools →Change Buffer**） を実行する。

② MilliQ®水 15 mlをランニング緩衝液の位置に置き、Change Buffer（**Tools→Change Buffer**）を実行する。

③ MilliQ®水をランニング緩衝液としてセットしたまま、Standby（**Tools→Standby Flow**） を 30 分間以上実行する。終了後は、 Undock（**Command→Undock...**） を実行してSensor Chip Maintenanceを取り出す。

（注意）Sanitize を行う前に、Desorb を実行することをお勧めする。
（注意）センサーチップに固定してあるリガンドは失活するので、必ず Maintenance Chip を使用する。

補足 10　コネクターブロックのメンテナンス

毎日の実験終了後、MilliQ®水を入れた洗浄ビンで、コネクターブロックを洗浄するとよい。インジェクションポートやリカバリーポート等に、塩が析出すると詰まる原因になる。特に、電源を落として終了させる場合は、MilliQ®水で洗浄することをお勧めする。

8.　システムの動作確認

System Check

システムに異常がないか確認するテストである。

準備するもの

・HBS-EP

・BIAtest solution

・Sensor Chip CM5 (新品)

手順

システムチェック 1

① 新品の Sensor Chip CM5 を Dock（Command→Dock）する。

② 測定温度を 25℃に設定する。

③ Single Channel（Fc1 または Fc2）を選択し、High Flow にて測定を開始する。

④ BIAtest solution を 2 分間添加する。添加が終了し、レスポンスがベースラインまで戻った後、測定を終了する。

⑤ 添加開始を基点として、30 秒前（相対値を 0 とする）、90 秒後にレポートポイントを取る。

システムチェック 2

① Dual Channel を選択し、High Flow にて測定を開始する。

② BIAtest solution を 2 分間添加する。添加が終了し、レスポンスがベースラインまで戻った後、測定を終了する。

③ 添加開始を基点として、30 秒前（相対値を 0 とする）、90 秒後にレポートポイントを取る。

（注意）Desorb および Sanitize 実行後に行う。

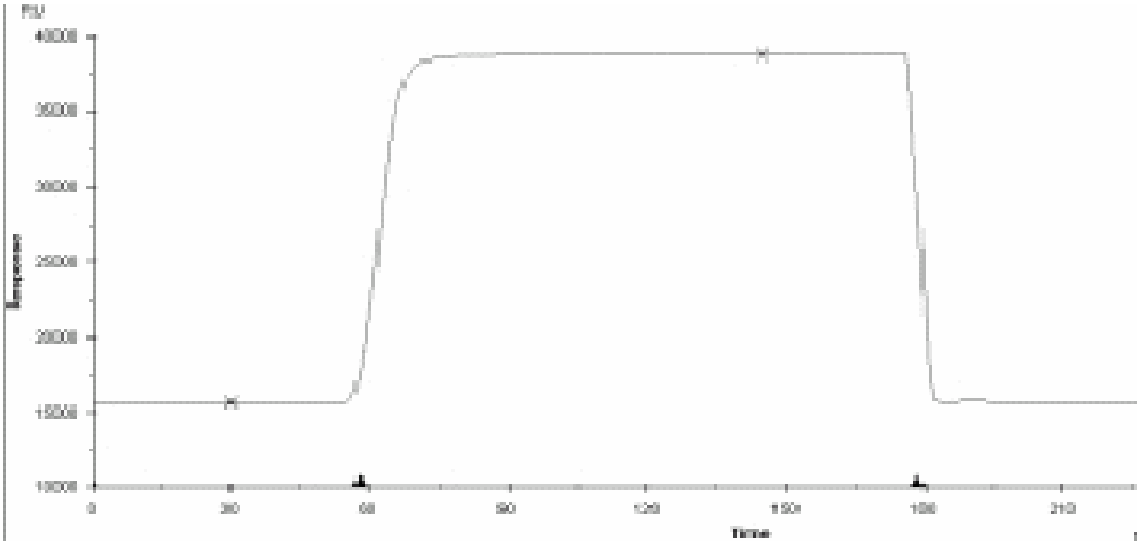
（注意）使用した Sensor Chip CM5 は実験に使用することができる。

結果の評価

システムが正常に作動している、ということの評価ポイントは以下のとおりである。

- Single Channel 測定でのセンサーグラムと Dual Channel 測定での両フローセルのセンサーグラムが近似していること。
- レスポンスの高さが、添加開始の Event mark（▲）の±5 秒以内に、平衡値の 10%に達していること。
- 平衡値（ベースラインからの相対値表示）が 22,500RU±1,000RU であること。
- レスポンスが落ち始めるのが、添加終了の Event mark の±3 秒以内であること。

また、次のセンサーグラムと近似した結果が得られればよい。



著しく異なるセンサーグラムが得られた場合にはシステムの故障が考えられる。弊社技術サービス部に連絡する。

安全上のご注意

必ずお守りください

このしおりには、弊社機器に関する一般的な注意事項を記載しています。取扱いの詳細は必ず製品添付の使用説明書をご覧ください。

誤った取扱いをした場合に生じる危険や損害の程度を、次の区分で説明しています。

警告 誤った取扱いをした場合に、死亡や重傷を負う可能性があるもの。

注意 誤った取扱いをした場合に、傷害または物的損害が発生する可能性があるもの。

図記号の意味は次の通りです。

禁 止 ⃠は、してはいけない「禁止」を示します。

❗は、必ず実行していただく「強制」を示します。

警告

禁 止

電源プラグの抜き差しにより、運転を停止しない

火災・感電の原因になります。

禁 止

電源コードを途中で接続しない、タコ足配線をしない

火災・感電・故障の原因になります。

禁 止

電源コード・電源プラグを傷つけない

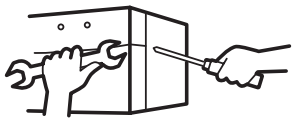
●加工しない ●束ねない ●ねじらない
●折らない ●物をのせない ●加熱しない
●無理に曲げない

破損して火災・感電の原因になります。

禁 止

修理・分解・改造はしない

火災・感電の原因になります。



根元まで差込む

電源プラグのほこりを取り除き、刃の根元まで確実に差込む

接続が不十分だと、隙間にほこりが付着して火災・感電の原因になります。

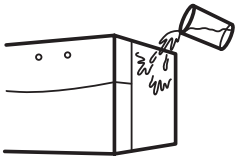
指定の規格

取扱説明書に指定された規格のコンセントを使用する

指定された規格以外で使用すると火災・感電の原因になります。

禁 止

本体を水につけたり、水をかけたりしない



ショート・感電の原因になります。

禁 止

電源コードや電源プラグが傷んだり、コンセントの差し込みがゆるいときは使わない

感電・ショート・発火の原因になります。

禁 止

使用時や使用直後（運転停止後約60分間）は、操作に関係のない部位には触れない

高温部に触れ、やけどの原因になります。

プラグを抜く

異常時は、運転を停止して電源プラグを抜く

異常のまま運転を続けると火災・感電の原因になります。

禁 止

同梱の電源コード・電源プラグ以外のコード・プラグを使用しない

故障・火災・感電の原因になります。

禁 止

同梱の電源コード・電源プラグを他の電気機器に使用しない

故障・火災・感電の原因になります。

⚠ 注意

禁 止

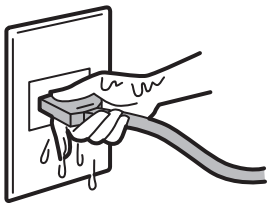
設置時は、次のような場所には置かない

●不安定な場所　●湿気やほこりの多い場所
●油煙や湯気が当たる場所
●直射日光の当たる場所　●風雨のあたる場所
●熱器具の近く　●高温になる場所
●吸・排気口をふさぐような場所

このような場所に置くと、ショートや発熱、電源コードの被膜が溶けるなどして、火災や感電、故障、変形の原因になることがあります。

禁 止

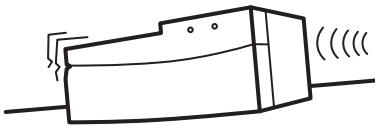
ぬれた手で電源プラグを抜き差しをしない



感電の原因になります。

水平

水平で丈夫な場所に設置する



プラグを持つ

電源プラグを持ってまっすぐ引き抜く

ななめに引き抜いたり、コードを持って抜くと、プラグの刃や芯線が破損してショート・感電・発火の原因になります。

⚠ 低温室で使用する場合の注意

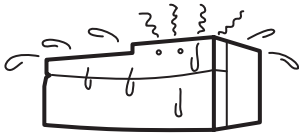
電源を
入れておく

装置を低温環境下でご使用になる場合、システム電源は常時入れておく

低温環境下で長時間システムの電源を落とした状態で放置すると、結露などにより故障の原因になります。
ランプなどの消耗品は OFF にしておくと、劣化を防ぐことができます。

電源を
入れない

装置を低温室から常温の場所に移動させる場合、常温に設置後、装置内の結露が無くなるまでシステム電源を入れない（状況により異なるが、通常半日から一昼夜）



感電・漏電火災の原因になります。

弊社製品についてのお問合せ　（バイオダイレクトライン）

TEL：03-5331-9336

受付時間 9：00 ～ 17：30
土・日・祝日、弊社指定休業日、年末年始を除く

www.gelifesciences.co.jp

e-mailで最新情報をお届けしています。お申込みは上記Webサイト右上の「メール会員登録」から。

©2010 GE ヘルスケア・ジャパン株式会社 本書の全部または一部を無断で複写複製することは、著作権法上の例外を除き、禁じられています。
掲載されている製品は試験研究用以外には使用しないでください。掲載されている内容は予告なく変更される場合がありますのであらかじめご了承ください。
掲載されている社名や製品名は、各社の商標または登録商標です。

GEヘルスケア・ジャパン株式会社
ライフサイエンス統括本部
〒169-0073
東京都新宿区百人町 3-25-1 サンケンビルヂング
お問合せ：バイオダイレクトライン
TEL : 03-5331-9336　FAX : 03-5331-9370
e-mail : Tech-JP@ge.com

ISO 9001:2000認証取得

取扱店